

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2003-501626

(P2003-501626A)

(43) 公表日 平成15年1月14日 (2003.1.14)

(51) Int.Cl.⁷

G 0 1 N 27/327

識別記号

F I

G 0 1 N 27/30

テマコード* (参考)

3 5 3 B

3 5 3 D

3 5 3 R

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 38 頁)

(21) 出願番号 特願2001-500850(P2001-500850)
(86) (22) 出願日 平成12年5月31日 (2000.5.31)
(85) 翻訳文提出日 平成13年11月30日 (2001.11.30)
(86) 国際出願番号 PCT/US 00/15106
(87) 国際公開番号 WO 00/073778
(87) 国際公開日 平成12年12月7日 (2000.12.7)
(31) 優先権主張番号 09/324, 493
(32) 優先日 平成11年6月2日 (1999.6.2)
(33) 優先権主張国 米国 (US)

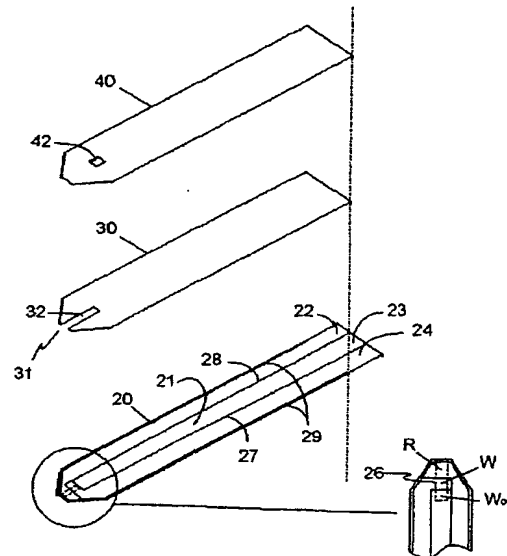
(71) 出願人 ノヴァ バイオメディカル コーポレイション
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州
02254 ウォルトハム プロスペクト ス
トリート 200
(72) 発明者 ウィナルタ ハンダニ
アメリカ合衆国 ニューハンプシャー州
03062 ナシュア ハイアシンズ ドライ
ブ 18
(74) 代理人 弁理士 足立 勉

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 使い捨てサブマイクロリットル量センサ及び製造方法

(57) 【要約】

第一及び第二端を有する積層片、通気口、1マイクロリットル未満の流体サンプルを受容するための第一端から始まり通気口に通じる開放経路、開放経路内の第一端近辺で積層片に埋め込まれた作用電極、参照電極及び疑似作用電極、開放経路内において空間的に同一の広がりを持つ3つの電極を覆っている試薬マトリクス、及び積層片の第二端に位置する導電接触部を含む、流体サンプルを検査するための使い捨て電極片。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 第一の片端、第二の片端及び前記第一の片端から離れた位置にある通気口とを有する積層片であり、3つの電極経路を示すようにスクライビングされた導電層が上に置かれている基部層と、前記基部層上に置かれた経路形成層と、被覆とを備えた積層片と、

前記第一の片端と前記通気口の間、1マイクロリットル未満の体積の流体サンプルを収容するような大きさの閉鎖経路と、

前記閉鎖経路内の前記基部層上に置かれた、少なくとも1つの酵素及び1つのレドックス媒介物を含有する試薬マトリクスと、

前記第二の片端にあり、前記閉鎖経路から隔離された導電接触部とを備えた、流体サンプル検査用の使い捨て電極片。

【請求項2】 前記酵素がグルコースオキシダーゼである、請求項1に記載の電極片。

【請求項3】 前記レドックス媒介物が少なくとも1つの金属錯体である、請求項1に記載の電極片。

【請求項4】 前記レドックス媒介物がフェリシアン化カリウム及び他の無機及び有機レドックス媒介物である、請求項3に記載の電極片。

【請求項5】 前記導電被膜が金製である、請求項1に記載の電極片。

【請求項6】 前記導電被膜が金及び酸化スズを含む、請求項1に記載の電極片。

【請求項7】 前記基部層、前記経路形成層及び前記被覆がプラスチック誘電性材料で作られている、請求項1に記載の電極片。

【請求項8】 前記プラスチック材料が、ポリ塩化ビニル、ポリカーボネート、ポリサルフォン、ナイロン、ポリウレタン、硝酸セルロース、プロピオン酸セルロース、酢酸セルロース、酢酸酪酸セルロース、ポリエステル、アクリル、及びポリスチレンから成るグループから選択されている、請求項7に記載の電極片。

【請求項9】 前記閉鎖経路が親水性である、請求項1に記載の電極片。

【請求項10】 前記閉鎖経路が約0.22マイクロリットルの容積を有する

、請求項1に記載の電極片。

【請求項11】 前記被覆が少なくとも1つの面において親水性の被膜を有する、請求項1に記載の電極片。

【請求項12】 前記試薬マトリクスが更に、安定剤、結合剤、界面活性剤及び緩衝剤のうちの少なくとも1つを含有している、請求項1に記載の電極片。

【請求項13】 前記安定剤がポリアルキレングリコールであり、前記結合剤がセルロース材料であり、前記界面活性剤がポリオキシエチレンエーテルである、請求項12に記載の電極片。

【請求項14】 前記安定剤がポリエチレングリコールであり、前記結合剤がメチルセルロースであり、前記界面活性剤が t -オクチルフェノキシポリエトキシエタノールであり、前記緩衝剤がクエン酸塩緩衝剤である、請求項13に記載の電極片。

【請求項15】 前記試薬マトリクスが、約1wt%から約6.5wt%の前記レドックス媒介物と、約2.5wt%の前記安定剤と、約1wt%の前記結合剤と、約0.03wt%の前記界面活性剤と、前記クエン酸塩緩衝剤中の約1wt%の前記酵素とを含む出発成分を有する混合物から作られている、請求項14に記載の電極片。

【請求項16】 前記クエン酸塩緩衝剤が約0.05Mである、請求項15に記載の電極片。

【請求項17】 前記経路形成層が、前記開放経路に沿った前記流体サンプルの流量を最適化するのに十分な厚さを有する、請求項1に記載の電極片。

【請求項18】 前記の厚さが約0.0035インチ(0.089mm)である、請求項17に記載の電極片。

【請求項19】 前記フェリシアン化カリウムが6.5wt%である、請求項15に記載の電極片。

【請求項20】 前記酵素がグルコースオキシダーゼである、請求項15に記載の電極片。

【請求項21】 前記閉鎖経路が、作用電極、疑似作用電極及び参照電極を含む、請求項1に記載の電極片。

【請求項22】 前記疑似作用電極が対極である、請求項21に記載の電極片

。【請求項23】 前記疑似作用電極がトリガー電極である、請求項21に記載の電極片。

【請求項24】 前記疑似作用電極及び前記参照電極の一对が抵抗測定電極対である、請求項21に記載の電極片。

【請求項25】 流体サンプル中の検体を検知するあるいはその濃度を測定するための、使い捨て電極片であって、

第一の基部層端及び第二の基部層端を有する絶縁基部層片と、

前記基部層片の1つの面に配置され、3つの電氣的に異なる導電経路のパターンを示すようスクライビングされた導電層と、

前記絶縁基部層片より小さく、前記導電層のかんりの部分を覆う中間絶縁体であって、前記第一の基部層端から離れた位置にあり前記3つの導電経路の一定の部分を露出させている切取部を有する中間絶縁体と、

前記切取部内に配置された、酵素、レドックス媒介物、安定剤、結合剤、界面活性剤及び緩衝剤を含む電極材料と、

流体サンプル経路を形成する前記中間絶縁体を覆う大きさであり、該中間絶縁体と空間的に同一の広がりを持つ被覆層絶縁体であって、前記第一の基部層端から離れた位置にあり、前記中間絶縁体の前記切取部の少なくとも一部分を露出させるよう構成された被覆層絶縁体開口を有する被覆層絶縁体とを備えた電極片。

【請求項26】 前記流体サンプル経路が約0.22マイクロリットルの容積を有する、請求項25に記載の電極片。

【請求項27】 前記流体サンプル経路が親水性である、請求項25に記載の電極片。

【請求項28】 前記レドックス媒介物が、フェロセン、フェロセン誘導体及びフェリシアン化カリウムから成るグループから選択された少なくとも1つの金属錯体であり、前記安定剤がポリアルキレングリコールであり、前記結合剤がセルロース材料であり、前記界面活性剤がポリオキシエチレンエーテルであり、前記緩衝剤のpHが約5から約6である、請求項25に記載の電極片。

【請求項29】 前記媒介物がフェリシアン化カリウムであり、前記安定剤がポリエチレングリコールであり、前記結合剤がメチルセルロースであり、前記界面活性剤が t -オクチルフェノキシポリエトキシエタノールであり、前記緩衝剤がクエン酸塩緩衝剤である、請求項28に記載の電極片。

【請求項30】 前記電極材料が、約6.5wt%の前記フェリシアン化カリウムと、約2.5wt%の前記ポリエチレングリコールと、約1wt%の前記メチルセルロースと、約0.03wt%の前記 t -オクチルフェノキシポリエトキシエタノールと、前記クエン酸塩緩衝剤中の約1wt%の前記酵素とを含む出発成分を有する混合物から作られる、請求項29に記載の電極片。

【請求項31】 前記酵素がグルコースオキシダーゼである、請求項30に記載の電極片。

【請求項32】 前記絶縁基部層片、前記中間絶縁体、及び前記被覆層絶縁体が、ポリ塩化ビニル、ポリカーボネート、ポリサルフォン、ナイロン、ポリウレタン、硝酸セルロース、プロピオン酸セルロース、酢酸セルロース、酢酸酪酸セルロース、ポリエステル、アクリル、及びポリスチレンから成るグループから選択されたプラスチック材料で作られている、請求項25に記載の電極片。

【請求項33】 前記流体サンプル経路が、作用電極、疑似作用電極及び参照電極を収容している、請求項25に記載の電極片。

【請求項34】 前記疑似作用電極が対極である、請求項33に記載の電極片。

【請求項35】 前記疑似作用電極がトリガー電極である、請求項33に記載の電極片。

【請求項36】 前記疑似作用電極及び前記参照電極の対が抵抗測定電極対である、請求項33に記載の電極片。

【請求項37】 各センサが少なくとも作用電極、参照電極、疑似作用電極及び試薬マトリクスを有し、該試薬マトリクスが、酵素の基質に関わる反応に対して触媒作用を及ぼすことができる酵素を含有し、該作用電極及び該参照電極が、流体サンプルを測定するための流体サンプル経路内に配置されてなる複数の使い捨てセンサの製造方法であって、

導電材料の層が上に載せられている、第一端及び第二端を有する絶縁材料の基部層片を用意することと、

前記導電材料に反復パターン状の複数の線をスクライビングにより形成し、該複数の線が、各反復パターン内に3つの導電経路を形成することができる反復パターンを含むようにすることと、

前記基部層片上に絶縁材料の中間層を載せ、該中間層は、細長い切取部の反復パターンを有し、該反復パターンのそれぞれの各切取部は、各反復パターンの3つの導電経路のそれぞれの電極部を露出させ、前記細長い切取部の反復パターンは、前記基部層片の前記第一端から離れた位置にあり、前記中間層は、前記基部層片の前記第二端と距離を置いて、各反復パターンの前記2つの導電経路のそれぞれの接触部を露出させる大きさにすることと、

前記反復パターンの各細長い切取部内に、試薬材料を置くことと、

各前記細長い切取部内の前記試薬材料を凝固させるのに十分な温度及び時間で、該試薬材料を乾燥させることと、

前記中間層を覆い、該中間層と空間的に同一の広がりを持つように絶縁材料の最上層を載せ、該最上層は反復パターンの複数の通気口を有し、該通気口のそれぞれは、前記中間層の前記細長い切取部の、前記基部層片の前記第一端から最も離れた部分に対応する反復パターンの一部分を露出させ、前記基部層片、前記中間層及び前記最上層が積層片を形成するようにすることと、

前記積層片の前記第一端に沿って、該第一端と平行に所定の距離を切り取って、前記反復パターンのそれぞれに対する前記細長い切取部のそれぞれにサンプル注入口を形成することと、

前記積層片の前記第二端に沿って、該第二端と平行に所定の距離を切り取って、前記反復パターンのそれぞれについて2つの別個の接触部を形成することと、

前記反復パターンのそれぞれを、前記積層片に沿って所定の間隔で分離することと、を含む方法。

【請求項38】 前記乾燥させる工程が、更に、前記試薬材料を約55℃の温度で加熱することを含む、請求項37に記載の方法。

【請求項39】 前記乾燥させる工程が、更に、前記試薬材料を約2分間加熱

することを含む、請求項 38 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】****発明の背景****1. 発明の属する技術分野**

本発明は、概して、液体サンプル中の特定の成分即ち検体を定量化するために使用することが可能な電気化学センサに関する。特に、本発明は、新しい改良型の電気化学センサ及び電気化学センサを製造する新規で改善された方法に関する。より明確には、本発明は、製造が安価にできる使い捨て電気化学センサに関する。更に明確には、本発明は、正確な読取り値を与え、わずか0.2マイクロリットル程度の流体サンプルを必要とするに過ぎない使い捨て電気化学センサに関する。更に、一層明確には、本発明は、生理的流体中の検体の正確な定量的ための電気化学分析を行うために使用することが可能な使い捨て電気化学センサに関する。

2. 先行技術の説明

流体中の種々の検体の濃度を定量するにあたり、バイオセンサが、30年以上もの間使用されてきた。特に、関心の的となっているのは、血糖の測定である。血糖濃度が、恒常性を維持するために極めて重要であることは周知である。人の血糖値、即ちグルコースレベルの変動を測定する製品は、国内の何百万という糖尿病患者の多数にとって、日常的必需品となっている。この疾患は、血液化学における危険な異常を引き起こす可能性があり、失明や腎不全の一因になると考えられていることから、大多数の糖尿病患者は、自ら周期的に検査を行い、通常はインスリン注射によって、自らのグルコースレベルを適宜調整する必要がある。血糖濃度が正常範囲を下回れば、患者は意識不明や血圧の低下といった死につながる危険性さえある状態に陥るおそれがある。一方、血糖濃度が正常範囲を超えて高くなった場合には、過剰な血糖が脂肪酸やコレステロールの合成につながり、更に糖尿病の場合には昏睡を引き起こす可能性もある。このため、血糖値の測定は、インスリン療法によって自らの血糖値をコントロールする糖尿病患者にとって、日々不可欠な事となっている。

インスリン依存性患者は、自らの血糖値を一日に4回程度チェックするよう医

者から指示を受ける。通常的生活スタイルを頻繁なグルコースレベル測定の必要性に順応させるため、全血検査用試薬ストリップの開発に伴って、家での血糖値テストが可能となった。

【0002】

血糖バイオセンサの一つのタイプは、グルコースが存在する際に酵素と電極との間で電子を往復させることによって測定可能な電流信号をもたらす媒介組成物と組み合わされた酵素電極である。最も一般的に使用される媒介物は、フェリシアン化カリウム、フェロセン及びその誘導体と、その他の金属錯体である。この第二のタイプの電極に基づく多くのセンサが開示されて来た。このタイプの装置の例は、以下の特許において開示されている。

【0003】

米国特許第5,628,890号(1997年/カーター等)は、電極支持部と、該支持部上に配設された参照電極又は対極と、前記支持部上の前記参照電極又は対極から一定距離をおいて配設された作用電極と、前記参照電極及び作用電極を覆う密閉空間を規定すると共に、該密閉空間内にサンプルを受け入れるための開口を有する被覆層と、前記密閉空間において前記被覆層と前記支持部との間に介在した複数の網状層とを備えた電極片について開示している。この被覆層は、電極から一定距離をおいて設けられたサンプル付与開口を有する。作用電極は、自らの基質に関わる反応に対して触媒作用を及ぼすことが可能な酵素と、酵素触媒作用反応と作用電極との間で電子を運搬することが可能な媒介物とを含む。

【0004】

この装置は、センサ読取り値に対するヘマトクリットの影響を少なくすることを提案している。その開示によれば、これは、網状層によって作り出されたサンプル溶液の薄い層との組み合わせにおいて、作用電極に対する参照電極の下流の間隔設定によって成し遂げられる。

【0005】

米国特許第5,708,247号(1998年/マクアリー等)は、基質と、参照電極と、作用電極と、電氣的接続を行うための手段とを備えた使い捨てグルコース検査ストリップについて開示している。前記作用電極は、導電性の基層と

、この導電性基層を覆って設けられた被覆層とを有する。この被覆層は、網状組織を形成する疎水性と親水性のそれぞれの表面領域と、酵素と、媒介物とを有する充填材である。

【0006】

米国特許第5,682,884号(1997年/ヒル等)は、スクリーン印刷を伴うストリップ電極について開示している。このストリップは、長尺の支持部を備え、この支持部は、該支持部に沿ってそれぞれ延在する第一及び第二導体を含む。液状混合物及び第一導体に接触するように配置された活性電極には、反応に触媒作用を及ぼすことが可能な酵素と電子媒介物とが堆積されている。参照電極は、混合物及び第二導体と接触するように配置されている。

【0007】

米国特許第5,759,364号(1998年/チャールトン等)は、検体と反応して移動可能な電子を生成する電極を表面に備えた絶縁基板を有する電気化学バイオセンサについて開示している。この基板は、変形可能な素材からなる蓋と係合し、該蓋は、基板と係合した時、流体検査サンプルが流れ込むことができる毛細空間が形成されるように、平面によって囲まれる凹部領域を有する。蓋の基板に面した側は、高分子材料で覆われており、この高分子材料の働きによって、蓋が基板に接合されると共に、毛細空間の親水性の性質が増大される。

【0008】

米国特許第5,762,770号(1998年/ブリッチャード等)は、約9マイクロリットルの最小量血液サンプルを必要とする電気化学バイオセンサ検査ストリップについて開示している。この検査ストリップは、第一絶縁基板上に配設された、実質的に同じ大きさで同一の電気伝導性材料から成る作用電極及び対極を有する。これらの電極上には、試薬孔を形成する切取部を備えた第二絶縁基板が被せられている。この切取部は、作用電極よりも対極に対して、より小さい領域を露出させている。検体の分析用試薬は、試薬孔において露出した作用電極及び対極の領域を実質的にカバーする。界面活性剤を染み込ませた拡散網目が、試薬孔の上を覆うと共に、第二絶縁基板に付着されている。

【0009】

米国特許第5, 755, 953号(1998年/ヘニング等)は、低減干渉バイオセンサについて開示している。この装置は、一般に、溶液中の興味の対象である検体の濃度を電気化学的に測定するために用いられる電極を備える。該装置は、微粒子炭素と共有結合されると共に、電極と密接に接触した状態でマトリクス内に保持されたペルオキシダーゼ酵素を含む。この開示によれば、周知の干渉物質に対してほとんど感度を示さない構成を提供しているのは、装置の酵素/微粒子炭素である。

【0010】

米国特許第5, 120, 420号(1992年/ナンカイ等)は、主に炭素から作られた電極装置を有する基板と、絶縁層と、その上に積層された酵素層を備えた反応層と、スペーサと、カバーとを備えたバイオセンサについて開示している。前記スペーサは、サンプルを保持するための、入口と出口を備えた経路を形成する。

【0011】

PCT特許出願番号WO98/35225(1998年/ヘラー等)は、約1マイクロリットル未満の量のサンプル中に含まれる検体の量及び濃度を定量するために設計されたセンサについて開示している。このセンサは、任意の吸着剤スペーサを備えた対向する作用電極及び参照電極を有する。作用電極は、浸出不能なレドックス媒介物及び酵素を含む試薬層によって覆われている。この装置は、1マイクロリットル未満の量の検査サンプルを用いることが可能であるが、必要とされる量を少なくするために、又サンプルがチャンバ内に流れ込むことができるようにチャンバに親水性の性質を付与するために、サンプルチャンバ内において吸着性物質を用いることを必要とする。

【0012】

しかしながら、現存する先行技術による装置の大部分は、2マイクロリットルよりも多量の検査サンプルを必要とする。この量の検査サンプルは、例えば、針や注射器を使用して、又は有用なサンプル量を得るために、指先等の皮膚の一部を切開してその部位から「絞り出す」ことによってのみ、患者から採取することが可能である。これらの処置は、特に、頻繁なサンプル採取が必要とされる場合に

は、患者にとって不便なものであり、しばしば痛みを伴うものでもある。サンプルを得るためにより痛みの少ない方法として、腕や腿といった神経終末の密集度が少ない部位を切開するものが知られている。しかしながら、腕や腿といった体の部位を切開しても、通常はサブマイクロリットルのサンプル量の血液を得られるに過ぎない。なぜなら、これらの部位は、表面付近にたくさんの毛細血管を有していないからである。本発明は、わずか0.2マイクロリットルの血液を必要とするに過ぎないので、一日に数回の血糖値測定を行わなければならない患者は、これらの好ましい部位から血液サンプルを採取することが可能となる。

【0013】

先行技術装置の更なる欠点は、それらがより限定された、通常約600mg/dLまでの直線範囲を有するに過ぎないことである。更に、それらは、読取り値が得られる前の定常応答が明らかになるまでに、比較的長い待ち時間を必要とする。

【0014】

正確なグルコース読取り値を得ることの重要性から、上述のような全ての欠点を伴わない、信頼性が高く、使用者にとって扱い易い電気化学センサを開発することは、大いに望ましいことであろう。従って、必要とされる物は、先行技術によって従来必要とされてきた量よりも少ないサンプル量を必要とする電気化学センサである。更に、必要とされる物は、広範囲な直線測定範囲を有する電気化学センサ、即ち、より広範囲なグルコース濃度に対して使用可能なセンサである。尚、その上必要とされる物は、定常応答が明らかになるまでの待ち時間が比較的短い電気化学センサである。

発明の要約

本発明の一つの目的は、酵素と媒介物とを組み合わせた改良型電気化学センサを提供することである。本発明の更なる目的は、先行技術によって従来必要とされてきたよりも少量のサンプル量を必要とする電気化学センサを提供することである。本発明の更に別の目的は、サンプル経路における網状層を使用することなく、少量のサンプルを測定することが可能な電気化学センサを提供することである。本発明の更なる別の目的は、広範囲な直線測定範囲を有すると共に、定常応

答が明らかになるまでの待ち時間が比較的短い電気化学センサを提供することである。

【0015】

本発明は、これらの目的並びにその他の目的を、わずか約0.2マイクロリットルのサンプル量を必要とし、このサンプル量の減少を達成するための手段として、サンプル経路における網状層を使用しない電気化学センサを提供することにより達成する。更に、本発明は、流体サンプル中の検体濃度と非常に密接な相互関係を有する読取り値が、流体サンプルがサンプル経路に入ってから20秒で得られることを可能にする試薬組成物を用いる。本発明は、長尺の積層体を備え、この積層体は、その一端に設けられた開口と該開口から離して配設された通気口との間で接続されたサンプル流体経路を有する。このサンプル流体経路は、全血等のサンプルのサンプル流体経路内への迅速な流入を最適化するようにその大きさが定められている。サンプルの迅速な取込みは、電極反応がより早く定常状態に達することを可能にし、このためより迅速に検体読取り値を得ることが可能となる。流体経路内には、少なくとも一つの作用電極と一つの参照電極とが設けられ、好ましくは、一つの作用電極と、一つの参照電極と、一つの擬似作用電極とを設けることが好ましい。作用電極と参照電極との配置は、電気化学センサから得られる結果の上で重要でない。作用電極、参照電極、及び擬似作用電極は、それぞれ個別の導電性コンジットと電気的に接触している。この個別の導電性コンジットは、積層体の開口経路端と対向する端部にその末端を有すると共に、そこで読取り装置と電気的に接続されるため露出した状態となっている。

【0016】

積層体は、プラスチック材料から成る基部絶縁層を有する。この基部絶縁層は、その一面に導電層を有する。導電層は、スクリーン印刷によって、又は蒸着によって、又は基部絶縁層に付着し、その基部絶縁層の全体を実質的に覆う導電層を提供する何らかの方法によって、絶縁層上に設けられても良い。蒸着導電層は、当該導電層にエッチング/スクライビング処理を行うことにより、導電性コンジットに分離される。エッチング処理は、化学的に行われても良いし、導電層に機械的にスクライビングすることで線を刻み付けることによって行われても良い

し、レーザーを使用して導電層に線を刻み付けることによって個別の導電性コンジットを形成することで成し遂げられても良いし、あるいは本発明で必要とされる個別の導電性コンジットの間に絶縁をもたらす何らかの手段によって成し遂げられても良い。好ましい導電被膜として、金被膜又は酸化スズ／金被膜組成物／層が挙げられる。

【0017】

ここで、金被膜又は酸化スズ／金被膜それ自体は、参照電極として作用することは不可能であることが指摘されるべきである。参照電極を作用させるためには、電位が付与された際に、導電性材料側にレドックス反応（例えば、 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} + e^- \rightarrow \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ ）が起こらなければならない。従って、参照電極として用いられる導電性材料に、レドックス媒介物が存在しなければならない。

【0018】

本発明に特有の特徴は、測定のために必要とされるサンプル量を少なくするために、対向する作用電極及び参照電極や、それらの間に配設された吸着剤／網状層を使用することなく、わずか0.15マイクロリットルのサンプル量で測定することが可能なことである。これは、基部絶縁層として用いられる材料と導電被膜との組み合わせ、及びその上に導電性コンジットを形成する独特の方法により可能とされている。

【0019】

又、積層体は、基部層の上に中間絶縁層を有する。この中間層は、同じくプラスチック絶縁材料から成ると共に、積層体のサンプル流体経路を形成する。中間層は、その一端にU字形の切取部を有し、この切取部は、基部層上の導電性コンジットの電極部を、先に延べた積層体の開口端に対応する開口端で覆う役割を果たす。

【0020】

中間層の厚さは、最適な血液流動特性を有する流体経路寸法を維持する一方で、電気化学センサとして用いるのに十分な量の化学試薬を充填するために十分な厚さでなければならない。U字形切取部は、化学試薬を含む。この化学試薬は、安定剤、結合剤、界面活性剤、及び緩衝剤のうちの少なくとも一つを備えたレド

ックス媒介物と、自らの基質に関わる反応に対して触媒作用を及ぼすことが可能な酵素とを有する。レドックス媒介物は、酵素触媒作用反応と作用電極との間で電子を運搬することが可能である。それは又、参照電極を機能させる。

【0021】

本発明の積層体は、通気口を備えた最上層を有する。この通気口は、少なくともその一部が、中間絶縁層の化学試薬の一部を露出させているU字形切取部の底部上を覆うように配置されている。この通気口により、サンプル流体が積層体の開口端から入り込んだ時、サンプル流体経路内の空気が逃がされる。サンプル流体は、通常、毛管現象によってサンプル流体経路を満たす。少量の状態では、毛管現象の程度は、毛管現象を起こしている流体と接触した表面の疎水性／親水性の性質に左右される。これは、物質のぬれ性としても知られている。毛管力は、親水性絶縁材料を用いて最上層を形成することによって、あるいは積層体の開口端と最上層の通気口との間のサンプル流体経路と向き合った最上層領域において、疎水性絶縁材料の一面の少なくとも一部を親水性の物質でコーティングすることによって、高めることができる。これは、最上層の一面全体を親水性物質でコートした後、第二中間層に接着しても良いと解釈されるべきである。

【0022】

積層体の三つの層は、いかなる誘電性材料から作られても良い。好ましい材料は、プラスチック材料である。誘電性材料として利用可能な組成物の例としては、ポリ塩化ビニル、ポリカーボネート、ポリサルフォン、ナイロン、ポリウレタン、硝酸セルロース、プロピオン酸セルロース、酢酸セルロース、酢酸酪酸セルロース、ポリエステル、アクリル、及びポリスチレンが挙げられる。

【0023】

サンプル流体経路内に配置された電極部は、作用電極(W)と、参照電極(R)と、擬似作用電極(W₀)とのための試薬材料を含む。試薬混合物は、流体経路内に配置され、そのため基部絶縁層及び導電性コンジットの電極部を覆う。十分な量の試薬混合物が、中間絶縁層のU字形切取部内に配設され、U字形切取部によって輪郭を形成された導電性表面全体を実質的に覆う。乾燥させることで作り出される試薬マトリクスが電気化学センサとして用いるのに十分であると共に

、流体経路を介して迅速な血液の流動を許容するのに十分な空きスペースが試薬マトリクス上に提供されるように、使用される試薬混合物の量が決められる。試薬マトリクスは、安定剤、結合剤、界面活性剤、緩衝剤のうちの少なくとも一つを備えたレドックス媒介物と、自らの基質に関わる反応に対して触媒作用を及ぼすことが可能な酵素とを有する。

【0024】

サンプル流体経路内の可能な電極配置は、積層体の開口端から通気口までの間に配置される電極配置順序として、 $W-R-W_0$ 、 $W-W_0-R$ 、 $R-W-W_0$ 、 $R-W_0-W$ 、 W_0-W-R 、 W_0-R-W で表される順序のいずれであっても良い。好ましい配置は、 $R-W-W_0$ 、つまり、サンプル流体が積層体の開口端から入り込んだ後、最初にRを、その後Wを、更にその後 W_0 を覆って行く配置であることが見い出されている。

【0025】

擬似作用電極 W_0 は、サンプル流体が最後にそこに到達するように配置される。このため、 W_0 で結果的に生じた電流によって読取りメータが起動され、測定及び検体濃度定量工程を開始する。こうした配置によって、不十分なサンプル流体量のために引き起こされる信頼性及び精度に関する問題が取り除かれる。 W_0 が又、対極としても使用可能であることが指摘されるべきである。結果として生じる三つの電極システム（即ち、作用電極、参照電極、及び対極）は、大きいIR降下を有するサンプル流体の場合に使用される。又、Rと組み合された W_0 が、サンプル流体の抵抗を測定するために利用可能であることも指摘されるべきである。その結果としての抵抗は、血液サンプルのヘマトクリットを算出し、又それによってヘマトクリット干渉を補正するために用いることも可能である。

【0026】

本発明の全ての利点は、以下の詳細な説明、図面及び付随のクレームを検討することによって、より明確にされるであろう。

好ましい実施例の詳細な説明

本発明の好ましい実施例を、図1から6に示す。図1は、本発明のセンサ10を示す。センサ10は、積層体100と、流体サンプル抽出端110と、電気接

触端120と、通気口42とを備える。流体サンプル抽出端110は、サンプル抽出端口114と通気口42との間にサンプル流体経路112を備える。電気接触端120は、少なくとも3つの目立たない導電接触部122、123、124を備える。

【0027】

図2では、積層体100が、基部絶縁層20と、中間層30と、最上層40とから構成されている。全ての層は、誘電性材料、好ましくはプラスチックから作られる。好ましい誘電性材料の例としては、ポリ塩化ビニル、ポリカーボネート、ポリサルフォン、ナイロン、ポリウレタン、硝酸セルロース、プロピオン酸セルロース、酢酸セルロース、酢酸酪酸セルロース、ポリエステル、アクリル、ポリスチレンである。基部絶縁層20は、導電層21を有し、その上に第一導電コンジット22と第二導電コンジット23と第三導電コンジット24とが描かれている。導電コンジット22、23、24は、図2にスクライブ線27及び28として示されるように導電層21にスクライビングまたはスコアリングを行うことにより形成されてもよいし、あるいは、導電コンジット22、23、24を基部層20上にシルクスクリーン捺染することにより形成されてもよい。導電層21のスクライビングまたはスコアリングは、導電層21を機械的に十分にスクライビングすることにより、3つの独立した導電コンジット22、23、24を生成するものであってもよい。本発明の好ましいスクライビングまたはスコアリング法は、炭酸ガス(CO₂)レーザか、YAGレーザか、エキシマレーザを用いて行われる。雑音信号を発生させることがある静電気の問題を回避するため、余分なスコアリング線29(説明のためだけに拡大されていて実際の寸法にはなっていない)が基部層20の外縁に沿って設けられていてもよい。なお、スコアリング線29は、センサ10を機能させるのに必要なものではない。導電層21は、どんな導電材料からできていてもよいが、金または酸化スズ/金からなるのが好ましい。基部層20に使用できる材料は、酸化スズ/金ポリエステルフィルム(Cat. No. FM-1)または金ポリエステルフィルム(Cat. No. FM-2)である。これらのフィルムは、カリフォルニア州カノガパークのコートールズパフォーマンスフィルムズ(Courtaulds Performance

e Films) により販売されている。

【0028】

中間層30は、中間層センサ端31に位置するU字型の経路切取部32を有する。経路切取部32の長さは、中間層30を基部層20の上に重ねた時、電極領域W、R、W₀が経路切取部32により規定される空間内に収まる程のものにする。中間層30の厚さは、サンプル流体経路112に流れ込むサンプル流体の速さにとって重要であることがわかった。サンプル流体経路112は、サンプル流体の毛管現象により満たされる。経路切取部32は、作用電極と参照電極と擬似作用電極とを形成する試薬マトリクス50を保持している。試薬マトリクス50は、図3により明瞭に示されている。通常、試薬マトリクス50には、参照電極を機能させるためにレドックス媒介物を供給しなければならない。Rにレドックス媒介物が供給されていないと、作用電極W及びW₀は機能しない。電極領域W、W₀、Rには、同じ化学試薬が供給されるのが好ましい。試薬には、酸化型のレドックス媒介物、安定剤、結合剤、界面活性剤、緩衝剤、酵素が含まれるのが好ましい。通常、レドックス媒介物は、フェロセン、フェリシアン化カリウム、その他のフェロセン誘導体、その他の有機及び無機レドックス媒介物のうちの少なくとも1つである。好ましい安定剤は、ポリエチレングリコールであり、好ましい結合剤は、メチルセルロースであり、好ましい界面活性剤は、t-オクチルフェノキシポリエトキシエタノールであり、好ましい緩衝剤は、クエン酸塩緩衝剤である。酵素は、当該酵素の基質、或いは、酵素に対して触媒としての反応性を有する基質に関わる反応に対して触媒作用を及ぼすことができる。また、媒介物は、酵素触媒反応と作用電極との間で電子を運搬することができ、その結果、酵素または基質の活性及び混合物に対応した電流を生成させる。このような酵素の例としては、グルコースオキシダーゼが挙げられる。

【0029】

中間層30の上に配置され、中間層30と空間的に同一の広がりを持つ最上層40は、流体経路112内のサンプル流体が完全に電極領域W、R、W₀を覆うように、センサ10の流体サンプル抽出端110から離れて配置される通気口42を備える。通気口42は、中間層30の経路切取部32の底部にある程度その

位置が合うよう最上層40に設けられる。ここで、底部とは、センサ端31から最も離れた箇所に位置する経路切取部32の部分を意味する。通気口42は、中間層30のU字型切取部32の一部を露出させると共に、U字型切取部32の底部と部分的に重なるのが好ましい。図3に、本発明の各種層の拡大断面図を示す。これらの層は、本発明の各構成要素の関係、特にはスクライブ線27及び28、が当業者によりよく理解されるようにするため、同一縮尺にはなっていない。

電極試薬マトリクスの調合

電極試薬マトリクスは、酸化型のレドックス媒介物、安定剤、結合剤、界面活性剤、緩衝剤、酵素を含む。酸化型のレドックス媒介物であるフェリシアン化カリウムは、マトリクスにおいて安定していることがわかった。適当なフェリシアン化カリウムは、ミズーリ州セントルイスのシグマケミカル (Sigma Chemical) で購入できる (Cat. No. P3667)。製剤に使われる量は、使用可能な直線範囲を得るのに十分でなければならない。酵素はまた、十分な活性、純度、安定性を有していなければならない。市販のグルコースオキシダーゼは、カリフォルニア州サンディエゴのバイオザイム (Biozyme) から Cat. No. G03Aとして購入可能であり、およそ270U/mg必要である。安定剤は、水に十分に溶けかつ媒介物と酵素の両方を安定化できなければならない。好ましい安定剤は、ポリエチレングリコール (Cat. No. P4338、ミズーリ州セントルイスのシグマケミカルズ (Sigma Chemicals)) である。結合剤もまた、電極領域W、R、W₀における試薬マトリクス中の他の全ての化学製品を基部層20の導電面/層21に結合できなければならない。好ましい結合剤は、Methocel 60 HG (Cat. No. 64655、ウィスコンシン州ミルウォーキーのフルカケミカル (Fluka Chemical)) である。緩衝剤溶液は、酵素による反応を最適化するために十分な緩衝力及びpH値を有していなければならない。0.05Mのクエン酸塩緩衝剤が好ましい。クエン酸塩緩衝剤を生成するのに使用されるクエン酸およびクエン酸ナトリウムは、シグマケミカルから購入できる。界面活性剤は、試薬マトリクスを形成するのに使用される乾燥した化学試薬を迅速に溶解させると共に、経路切取部32への電極反応マトリクスの注入を促進するのに必要である。界面

活性剤の量及び種類は、先に記載した機能を確実に果たし、酵素への変性効果を避けるものを選ばれる。好ましい界面活性剤は、ウィスコンシン州ミルウォーキーのフルカケミカル (Cat. No. 94443) から購入可能なTriton X-100である。試薬マトリクスは以下のように試薬配合を行うことにより得られる。

【0030】

ステップ1: クエン酸0.1512グラムとクエン酸ナトリウム1.2580グラムとを純水100mlに溶かすことにより、50mMのクエン酸塩緩衝剤を調合する。

ステップ2: methocel 1グラムをステップ1のクエン酸塩緩衝剤100mlに入れて12時間かき混ぜることにより1%のmethocel 60HG溶液を調合する。

【0031】

ステップ3: methocel 溶液に10%のTriton X-100を0.3ml加える。

ステップ4: ポリエチレングリコール2.5グラムをステップ3の溶液に加える。

【0032】

ステップ5: かき混ぜながら、フェリシアン化カリウム6.5グラムをステップ4の溶液に加える。

ステップ6: ステップ5の溶液にグルコースオキシダーゼ1.0グラムを加え、10分間あるいは全ての固形物が完全に溶解するまでかき混ぜる。

電極の組み立て

コートールズパフォーマンスフィルムズから購入可能な金または酸化スズ/金ポリエステルフィルムの断片を、図2に示したような、センサ10の基部層20を形成するような形に切断する。金または酸化スズ/金ポリエステルフィルムのスコアリングを行うのにはCO₂レーザ (カリフォルニア州サンディエゴのシンラッド社 (Synrad, Inc.)) で購入可能な25Wレーザ) が使われる。図2に示したように、流体サンプル抽出端110の2つの電極と、3つの接触点

122、123、124とが電気接触端120に形成されるように、フィルムにはレーザによりスコアリングがなされ、スコアリング線27及び28が生成される。スコアリング線はとても細いが、2つの別個の導電体を形成するのに十分な太さである。余分なスコアリング線29は、完成したセンサ10から雑音信号を生じさせ得る静電気の問題をなくするために基部層20の外縁に沿って入れられるが、必ずしも必要ではない。

【0033】

ペンシルバニア州グレンロックのアドヒーズブリサーチ (Adhesive Research) で購入可能な両面テープ (Arcare (登録商標) 7840) の断片をU字型経路32を備えた中間層30を形成する寸法及び形になるように切断する。その際、テープが、基部層20の導電層21の大部分を覆う一方で、図1に示した電気接触端120で小さな電気接触領域を露出させるようにする。U字型経路32は、CO₂レーザを使用して切断される。その後、中間層30を基部層20の上に重ねる。前述のように、この中間層30はスペーサの役割を果たし、流体サンプル抽出経路112の大きさを規定する。また、中間層30は、電極試薬マトリクス50を保持する電極領域26を規定する。その幅及び長さは、比較的すばやく動く流体サンプルに合わせて最適化される。U字型経路32の好ましい大きさは、幅0.039インチ (1.0mm) 程度、長さ0.134インチ (3.4mm) 程度である。

【0034】

1.0マイクロリットルの混合試薬を経路32に入れて電極W、R、W₀を形成する。混合試薬は、レドックス媒介物、安定剤、結合剤、界面活性剤、緩衝剤、酵素の混合物である。好ましい混合試薬の構成は、以下の成分を以下の割合 (W/W%) で混合することにより生成される：フェリシアン化カリウム約6.5%、ポリエチレングリコール約2.5%、methocel 60 HG約1%、Triton X-100約0.03%、クエン酸塩緩衝剤 (pH5.7) 約0.05M、グルコースオキシダーゼ約1%。混合試薬を加えた後、装置を55℃のオーブンで約2分間乾燥させた。

【0035】

乾燥後、透明フィルム（3Mで購入可能なCat. NO. PP2200またはPP2500）の断片で最上層40を作成する。長方形の通気口42を先に記載のCO₂レーザを使って形成する。通気口42の好ましい大きさは、0.039インチ（1.0mm）×0.051インチ（1.30mm）程度である。通気口42は、センサ10の流体端110からおよそ0.087インチ（2.2mm）の箇所に位置している。最上層40は、中間層30上に位置を調整されて重ねられ、図1に示したセンサ10の組み立てが完成される。

【0036】

電極の組み立てについての上記の記述は、1つのセンサの組み立てについて記載しているが、その設計及び使用された材料は、図4A-4Cに示したような各層の材料の一片から複数のセンサを製造する場合にも適用できるものである。この製造は、比較的大きな断片である基部層20上に導電層21を載せることから始められる。スコアリングを行うことで複数の線27及び28を導電層21に入れるが、その際、図4Aに示したような反復パターンが、前述した好ましいスクライビング法を用いて生成される。これにより、各パターンは、各センサの3つの導電パス22、23、24を最終的に規定する。同様に、図4Bに示されている、反復パターンを示す複数の細長い切取部32が設けられた中間層30の大きな断片は、基部層20上に重ねられる。中間層30の大きな断片は、基部層20に合う大きさに生成されるが、その際、複数の細長い切取部32は、3つの異なる電極領域W、R、W₀を露出させると共に細片の反対の端に位置する複数の導電接触部122、123、124を露出させるよう、スクライビング線27及び28が横断する領域上で位置合わせされる。各切取部の大きさ及び各経路32に入れられた混合試薬の量は、先に開示したものと同様である。各切取部に混合試薬を入れた後、中間層30の各細長い切取部32が試薬マトリクスの薄い層を含むように混合試薬は乾燥される。図4Cに示したように、反復パターンの複数の通気口42を有する、中間層30に匹敵する大きさであると共に空間的に同一の広がりを持つ最上層40を中間層30上に重ねる。図4Dは複合層の平面図である。3つの層20、30、40によって作成された積層片は、積層片から切り出すことができる複数のセンサ10を有している。積層片を流体サンプル抽出端

210で線A-A'に沿って縦に切ると、複数のサンプル抽出孔114が形成され、電気接触端220で線B-B'に沿って縦に切ると、複数の導電接触部122、123、124が形成される。また、積層片を所定の間隔を置いて線C-C'に沿って切断すると、複数の個別のセンサ10が形成される。図1に示したように、各センサ10の流体サンプル抽出端120の成形は好みに応じて実行されてよい。積層片が切り出される順番が重要ではないことは当業者にとっては明らかであろう。例えば、積層片は、所定の間隔(C-C')で切断されてからA-A'及びB-B'に沿って切断されてもよい。

【0037】

以下に、本発明に固有の特徴を示す例を表す。本発明の全てのセンサがマサチューセッツ州ウォルトハムのノババイオメディカル社(Nova Biomedical Corporation)により製造されたブレッドボードグルコースメータ上でテストされた。0.35ボルトの電位が作用電極及び参照電極間に付与され、結果として生じた電流信号をグルコース濃度に変換した。その読取り値を、オハイオ州イエロースプリングズのイエロースプリングズインストルメンツ社(Yellow Springs Instruments, Inc.)から購入可能なYSIグルコースアナライザ(Model 2300)を使って、同じサンプルに対して得られた読取り値(対照読取り値)と比較した。

例1

最小サンプル量特性の実証

本発明に独特の設計により、これまで可能であったよりもさらに少ないサンプルでの測定が可能になる。血液サンプルがセンサに付与され、サンプルは、流体サンプル抽出経路を通して通気口へと移動する。血糖の測定に必要な血液量は、経路の容量によって決められる。本発明のために計算された容量は、0.22マイクロリットルである。センサ反応に対する量の影響をテストするために、異なる血液サンプル量がセンサに付与され、その結果として生じる濃度の読取り値を、量に対して座標に示した。テストデータを図5に示す。

【0038】

本発明のセンサは、量が0.22マイクロリットルより少なくても、サンプル

量に依存しない反応を示している。本発明のセンサは、0.15マイクロリットルという少ないサンプル量であっても相応の読取り値を示すことがわかった。これが可能であるのは、血液量がサンプル抽出経路全体を満たさなくても、W、R、W₀に付与された試薬マトリクスの親水性によりサンプルが電極領域を覆うことができたためである。

【0039】

例2

広い直線範囲及び精密さ特性の実証

静脈血のサンプルを集めて、いくつかの部分サンプルに分けた。各部分サンプルは、35-1000mg/dLの範囲の異なるグルコース濃度を与えられた。これらの部分サンプルは、YSIグルコースアナライザで、その後、本発明のセンサでNovaグルコースメータを使用してそれぞれ測定された。本発明のセンサでは、電流反応と35-1000mg/dLのグルコース濃度との間には直線関係が見られる。YSIメータ（対照）を使って得られた濃度値に対する濃度読取り値を座標に示した。それが図6である。

【0040】

回帰係数0.9976は、YSI血糖アナライザで得られた読取り値とほぼ完全に一致したことを示す。同じ部分サンプルを、4つの異なる市販のセンサを使って付属するメータでテストした。市販のセンサは、600mg/dL程度までのみ直線的な反応を示した。500-600mg/dLの範囲より上では、全ての市販のセンサがテスト結果として「高」を表示した。

【0041】

本発明のセンサの精密さを、35-1000mg/dL程度の同じグルコース値の範囲で調べた。4つの異なる本発明のセンサ群を精密さの試験に使用した。概して、100及び300mg/dLのグルコース値を含むサンプルについて、相対標準偏差は、それぞれ、およそ5.0%及び3.6%であった。

【図面の簡単な説明】

【図1】 積層体の開口端、通気口、電気接触点を示す本発明の透視図である。

【図2】 積層体をなす種々の層を示す本発明の分解透視図である。

【図3】 図1の本発明の断面図である。

【図4A、4B、4C】 複数の本発明のセンサを形成するためのパターンを示す本発明の積層片の細片の断片の平面図である。

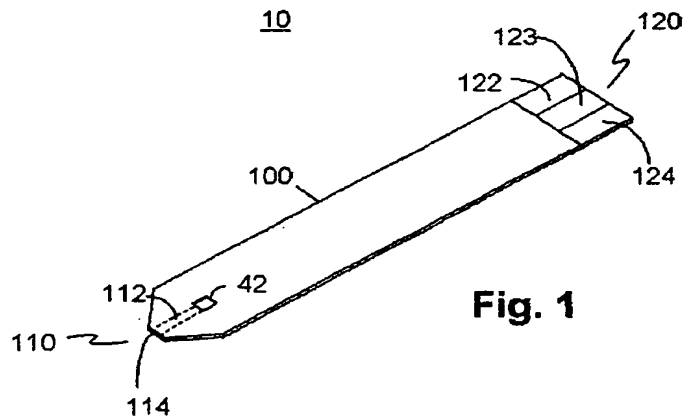
【図4D】 複数の本発明のセンサを形成するパターンを示すための本発明の積層片の断片の平面図である。

【図4E】 複数の本発明のセンサを形成するパターンを示すための本発明の積層片の断片の平面図である。

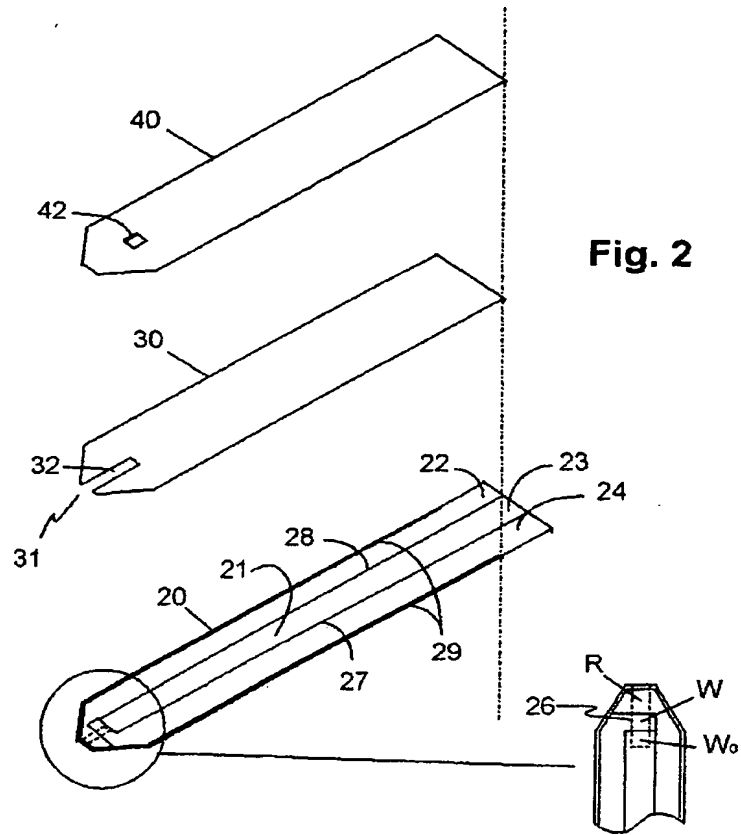
【図5】 本発明の濃度反応とサンプル量との相関図である。

【図6】 同じサンプルについての、本発明のセンサを使用した濃度読取り値とYSIグルコースアナライザを使用して得られた濃度読取り値との相関曲線である。

【図1】



【図 2】



【図 3】

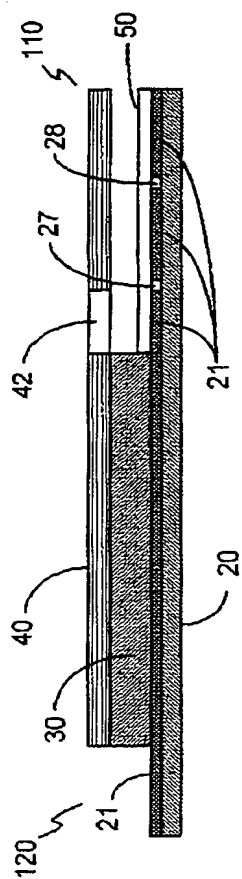


Fig. 3

【図 4 A】

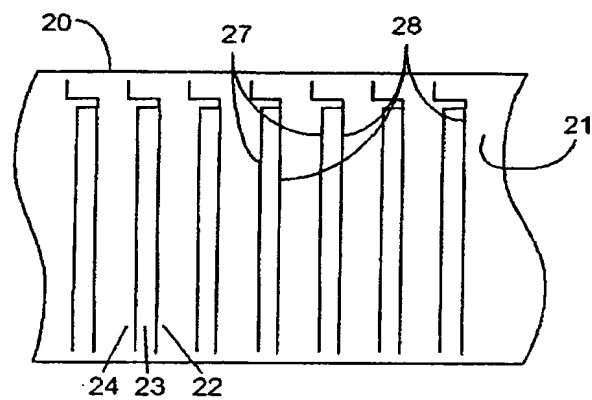


Fig. 4 A

【図4B】

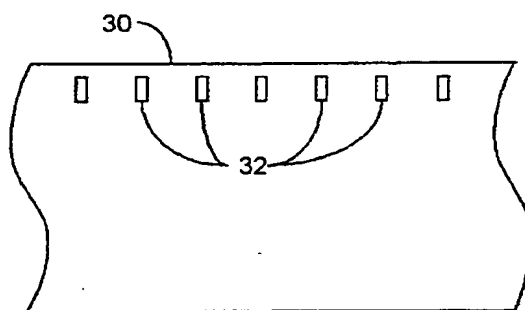


Fig. 4 B

【図4C】

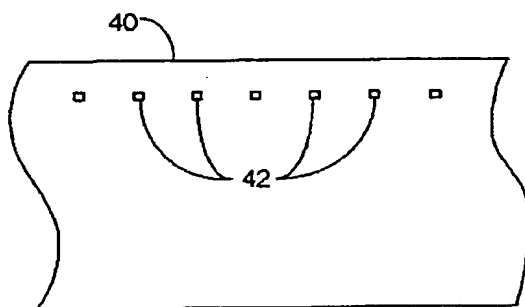


Fig. 4 C

【図4D】

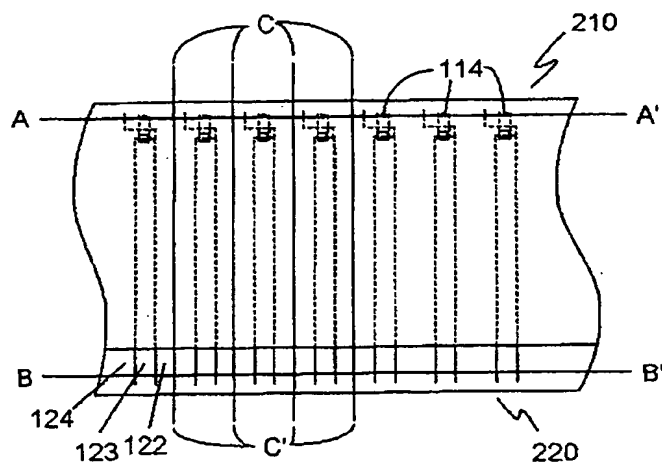


Fig. 4 D

【図5】

量に関する調査

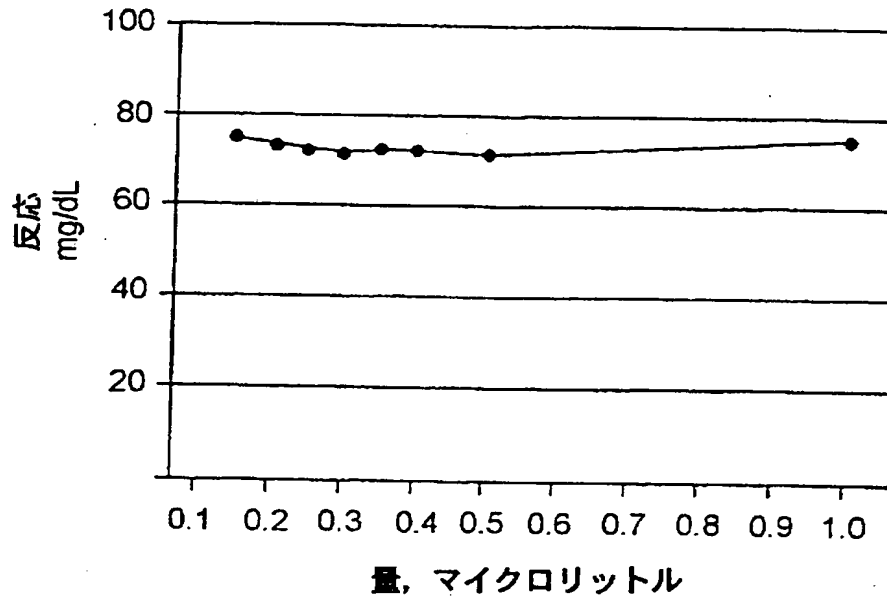


Fig. 5

【図6】

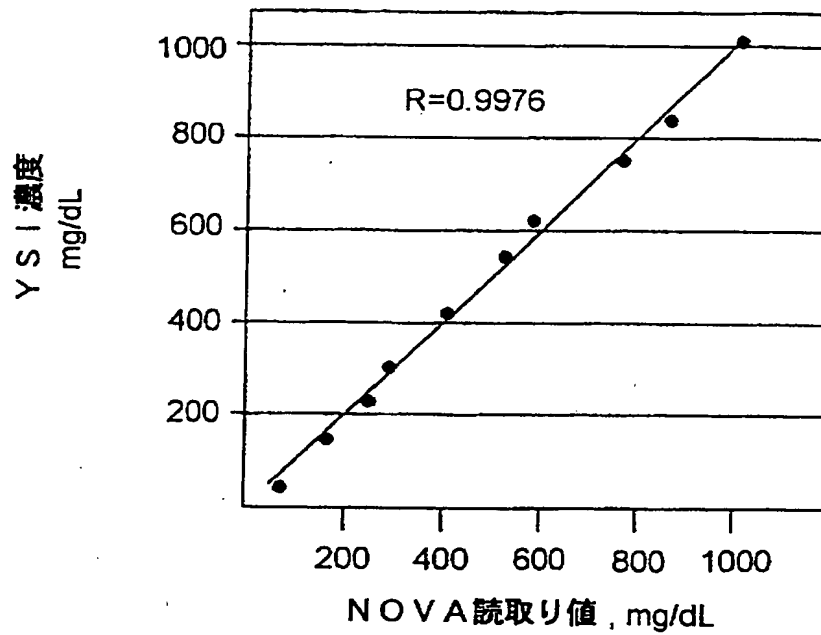


Fig. 6

【手続補正書】特許協力条約第34条補正の翻訳文提出書

【提出日】平成13年7月18日(2001. 7. 18)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 第一の片端、第二の片端及び積層片の最上面にあり前記第一の片端から離れた位置にある通気口とを有する積層片であり、3つの電極経路を示すようにスクライビングされた導電層が上に置かれている基部層と、前記基部層上に置かれた経路形成層と、被覆とを備えた積層片と、

前記第一の片端と前記通気口の間、1マイクロリットル未満の体積の流体サンプルを収容するような大きさの閉鎖経路と、

前記閉鎖経路内の前記基部層上に置かれた、少なくとも1つの酵素、1つの安定剤及び1つのレドックス媒介物を含有する試薬マトリクスと、

前記第二の片端にあり、前記閉鎖経路から隔離された導電接触部とを備えた、流体サンプル検査用の使い捨て電極片。

【請求項2】 前記酵素がグルコースオキシダーゼである、請求項1に記載の電極片。

【請求項3】 前記レドックス媒介物が少なくとも1つの金属錯体である、請求項1に記載の電極片。

【請求項4】 前記レドックス媒介物がフェリシアン化カリウム及び他の無機及び有機レドックス媒介物のうちの少なくとも1つである、請求項3に記載の電極片。

【請求項5】 前記導電被膜が金製である、請求項1に記載の電極片。

【請求項6】 前記導電被膜が金及び酸化スズを含む、請求項1に記載の電極片。

【請求項7】 前記基部層、前記経路形成層及び前記被覆がプラスチック誘電

性材料で作られている、請求項1に記載の電極片。

【請求項8】 前記プラスチック材料が、ポリ塩化ビニル、ポリカーボネート、ポリサルフォン、ナイロン、ポリウレタン、硝酸セルロース、プロピオン酸セルロース、酢酸セルロース、酢酸酪酸セルロース、ポリエステル、アクリル、及びポリスチレンから成るグループから選択されている、請求項7に記載の電極片。

【請求項9】 前記閉鎖経路が親水性である、請求項1に記載の電極片。

【請求項10】 前記閉鎖経路が約0.22マイクロリットルの容積を有する、請求項1に記載の電極片。

【請求項11】 前記被覆が少なくとも1つの面において親水性の被膜を有する、請求項1に記載の電極片。

【請求項12】 前記試薬マトリクスが更に、結合剤、界面活性剤及び緩衝剤のうちの少なくとも1つを含有している、請求項1に記載の電極片。

【請求項13】 前記安定剤がポリアルキレングリコールであり、前記結合剤がセルロース材料であり、前記界面活性剤がポリオキシエチレンエーテルである、請求項12に記載の電極片。

【請求項14】 前記安定剤がポリエチレングリコールであり、前記結合剤がメチルセルロースであり、前記界面活性剤が t -オクチルフェノキシポリエトキシエタノールであり、前記緩衝剤がクエン酸塩緩衝剤である、請求項13に記載の電極片。

【請求項15】 前記試薬マトリクスが、約1wt%から約6.5wt%の前記レドックス媒介物と、約2.5wt%の前記安定剤と、約1wt%の前記結合剤と、約0.03wt%の前記界面活性剤と、前記クエン酸塩緩衝剤中の約1wt%の前記酵素とを含む出発成分を有する混合物から作られている、請求項14に記載の電極片。

【請求項16】 前記クエン酸塩緩衝剤が約0.05Mである、請求項15に記載の電極片。

【請求項17】 前記経路形成層が、前記開放経路に沿った前記流体サンプルの流量を最適化するのに十分な厚さを有する、請求項1に記載の電極片。

【請求項18】 前記の厚さが約0.0035インチ(0.089mm)である、請求項17に記載の電極片。

【請求項19】 前記フェリシアン化カリウムが6.5wt%である、請求項15に記載の電極片。

【請求項20】 前記酵素がグルコースオキシダーゼである、請求項15に記載の電極片。

【請求項21】 前記閉鎖経路が、作用電極、疑似作用電極及び参照電極を含む、請求項1に記載の電極片。

【請求項22】 前記疑似作用電極が対極である、請求項21に記載の電極片。

【請求項23】 前記疑似作用電極がトリガー電極である、請求項21に記載の電極片。

【請求項24】 前記疑似作用電極及び前記参照電極の一对が抵抗測定電極対である、請求項21に記載の電極片。

【請求項25】 流体サンプル中の検体を検知するあるいはその濃度を測定するための、使い捨て電極片であって、

第一の基部層端及び第二の基部層端を有する絶縁基部層片と、

前記基部層片の1つの面に配置され、3つの電氣的に異なる導電経路のパターンを示すようスクライビングされた導電層と、

前記絶縁基部層片より小さく、前記導電層のかんりの部分を覆う中間絶縁体であって、前記第一の基部層端から離れた位置にあり前記3つの導電経路の一定の部分を露出させている切取部を有する中間絶縁体と、

酵素、レドックス媒介物、安定剤、結合剤、界面活性剤及び緩衝剤を含む電極材料であって、前記切取部によって露出された前記絶縁基部層片と前記導電層とにおける全ての部分が当該電極材料にて覆われるよう前記切取部内にのみ配置された電極材料と、

流体サンプル経路を形成する前記中間絶縁体を覆う大きさであり、該中間絶縁体と空間的に同一の広がりを持つ被覆層絶縁体であって、前記第一の基部層端から離れた位置にあり、前記中間絶縁体の前記切取部の少なくとも一部分を露出さ

せるよう構成された被覆層絶縁体開口を有する被覆層絶縁体とを備えた電極片。

【請求項26】 前記流体サンプル経路が約0.22マイクロリットルの容積を有する、請求項25に記載の電極片。

【請求項27】 前記流体サンプル経路が親水性である、請求項25に記載の電極片。

【請求項28】 前記レドックス媒介物が、フェロセン、フェロセン誘導体及びフェリシアン化カリウムから成るグループから選択された少なくとも1つの金属錯体であり、前記安定剤がポリアルキレングリコールであり、前記結合剤がセルロース材料であり、前記界面活性剤がポリオキシエチレンエーテルであり、前記緩衝剤のpHが約5から約6である、請求項25に記載の電極片。

【請求項29】 前記媒介物がフェリシアン化カリウムであり、前記安定剤がポリエチレングリコールであり、前記結合剤がメチルセルロースであり、前記界面活性剤が t -オクチルフェノキシポリエトキシエタノールであり、前記緩衝剤がクエン酸塩緩衝剤である、請求項28に記載の電極片。

【請求項30】 前記電極材料が、約6.5wt%の前記フェリシアン化カリウムと、約2.5wt%の前記ポリエチレングリコールと、約1wt%の前記メチルセルロースと、約0.03wt%の前記 t -オクチルフェノキシポリエトキシエタノールと、前記クエン酸塩緩衝剤中の約1wt%の前記酵素とを含む出発成分を有する混合物から作られる、請求項29に記載の電極片。

【請求項31】 前記酵素がグルコースオキシダーゼである、請求項30に記載の電極片。

【請求項32】 前記絶縁基部層片、前記中間絶縁体、及び前記被覆層絶縁体が、ポリ塩化ビニル、ポリカーボネート、ポリサルフォン、ナイロン、ポリウレタン、硝酸セルロース、プロピオン酸セルロース、酢酸セルロース、酢酸酪酸セルロース、ポリエステル、アクリル、及びポリスチレンから成るグループから選択されたプラスチック材料で作られている、請求項25に記載の電極片。

【請求項33】 前記流体サンプル経路が、作用電極、疑似作用電極及び参照電極を収容している、請求項25に記載の電極片。

【請求項34】 前記疑似作用電極が対極である、請求項33に記載の電極片

。【請求項35】 前記疑似作用電極がトリガー電極である、請求項33に記載の電極片。

【請求項36】 前記疑似作用電極及び前記参照電極の対が抵抗測定電極対である、請求項33に記載の電極片。

【請求項37】 各センサが少なくとも作用電極、参照電極、疑似作用電極及び試薬マトリクスを有し、該試薬マトリクスが、酵素の基質に関わる反応に対して触媒作用を及ぼすことができる酵素を含有し、該作用電極及び該参照電極が、流体サンプルを測定するための流体サンプル経路内に配置されてなる複数の使い捨てセンサの製造方法であって、

導電材料の層が上に載せられている、第一端及び第二端を有する絶縁材料の基部層片を用意することと、

前記導電材料に反復パターン状の複数の線をスクライビングにより形成し、該複数の線が、各反復パターン内に3つの導電経路を形成することができる反復パターンを含み、該反復パターンが前記第一及び第二端に対して直角をなすようにすることと、

前記基部層片上に絶縁材料の中間層を載せ、該中間層は、前記第一及び第二端に対して直角をなす細長い切取部の反復パターンを有し、該反復パターンのそれぞれの各切取部は、各反復パターンの3つの導電経路のそれぞれの電極部を露出させ、前記細長い切取部の反復パターンは、前記基部層片の前記第一端から離れた位置にあり、前記中間層は、前記基部層片の前記第二端と距離を置いて、各反復パターンの前記2つの導電経路のそれぞれの接触部を露出させる大きさにすることと、

前記反復パターンの各細長い切取部内に、試薬材料を置き、前記細長い切取部のそれぞれによって露出された前記基部層片と前記導電材料とにおける全ての部分が該試薬材料にて覆われるようにすることと、

各前記細長い切取部内の前記試薬材料を凝固させるのに十分な温度及び時間で、該試薬材料を乾燥させることと、

前記中間層を覆い、該中間層と空間的に同一の広がりを持つように絶縁材料の

最上層を載せ、該最上層は反復パターンの複数の通気口を有し、該通気口のそれぞれは、前記中間層の前記細長い切取部の、前記基部層片の前記第一端から最も離れた部分に対応する反復パターンの一部分を露出させ、前記基部層片、前記中間層及び前記最上層が積層片を形成するようにすることと、

前記積層片の前記第一端に沿って、該第一端と平行に所定の距離を切り取って、前記反復パターンのそれぞれに対する前記細長い切取部のそれぞれにサンプル注入口を形成することと、

前記積層片の前記第二端に沿って、該第二端と平行に所定の距離を切り取って、前記反復パターンのそれぞれについて2つの別個の接触部を形成することと、

前記反復パターンのそれぞれを、前記積層片に沿って所定の間隔で分離することと、を含む方法。

【請求項38】 前記乾燥させる工程が、更に、前記試薬材料を約55℃の温度で加熱することを含む、請求項37に記載の方法。

【請求項39】 前記乾燥させる工程が、更に、前記試薬材料を約2分間加熱することを含む、請求項38に記載の方法。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internal Application No.
PCT/US 00/15106

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G01N27/327 C12Q1/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C12Q A61B G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

WPI Data, PAJ, EPO-Internal, COMPENDEX, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1997, no. 11, 28 November 1997 (1997-11-28) & JP 09 189675 A (MATSUSHITA ELECTRIC IND CO LTD), 22 July 1997 (1997-07-22) abstract	1-8, 21-24, 37-39
X	US 5 437 999 A (DIEBOLD ERIC R ET AL) 1 August 1995 (1995-08-01) column 1, line 66 -column 2, line 33 column 3, line 29 - line 45 column 12, line 35 -column 13, line 8 table 1	1-9, 11, 12, 17, 20, 25-27, 31, 32, 37-39

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 September 2000

Date of making of the international search report

22/09/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 6818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851-epo.nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Muñoz, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Internal Application No
PCT/US 00/15106

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
JP 09189675 A	22-07-1997	US 6004441 A	21-12-1999
US 5437999 A	01-08-1995	CA 2183865 A	24-08-1995
		EP 0753051 A	15-01-1997
		JP 9509740 T	30-09-1997
		WO 9522597 A	24-08-1995

フロントページの続き

(81) 指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW

(72) 発明者 カイ ジアオフア

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州
02494 ニードハム マッキュロッチ ス
トリート 19

(72) 発明者 シート ファン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州
02465 ニュートン プラット ドライブ
31

(72) 発明者 ヤング チュン チャン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州
02193 ウェストン バックスキン ドラ
イブ 145